

## 酵母発酵における大豆ペプチド取り込み特性の解析 とその利用

著者	北川 さゆり
内容記述	筑波大学博士（生物工学）学位論文・平成25年3月25日授与（甲第6520号）
発行年	2013
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/120216">http://hdl.handle.net/2241/120216</a>

氏 名 (本籍)	きた がわ 北 川 さゆり (三 重 県)
学 位 の 種 類	博 士 (生物工学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 6520 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科
学 位 論 文 題 目	酵母発酵における大豆ペプチド取り込み特性の解析とその利用

主	査	筑波大学教授	博士 (農学)	青 柳 秀 紀
副	査	筑波大学教授	博士 (工学)	市 川 創 作
副	査	筑波大学准教授	博士 (学術)	中 島 敏 明
副	査	筑波大学准教授	博士 (農学)	中 村 顕

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

大豆ペプチド (SP) は、アミノ酸バランスに優れる大豆タンパク質を加水分解して得られるペプチド混合物であり、酵母や乳酸菌などに対して発酵助成力が強く、種々の発酵における培地成分として使用されている。しかしながら、SP が強い発酵助成力を示すメカニズムに関しては未解明である。この現状を踏まえ、本研究では、酵母における遊離アミノ酸とペプチドの取り込み特性の違いに着目し、SP が発酵助成力を示すメカニズムの解明を行うと伴に、得られた知見を活用し、ビール醸造に適した SP の提案を試みた。

SP あるいは FAA (SP と同じアミノ酸組成に配合したアミノ酸混合物) を窒素源として用い、ビール下面発酵酵母 Weihenstephan 34/70 による発酵試験を種々行った結果、いずれの条件においても、FAA 添加区に比べて SP 添加区は発酵初期の菌体の増殖やアルコールの生産開始が早い傾向が認められた。さらに、SP 添加区では  $\beta$ -フェネチルアルコール (醸造において重要な香り成分) の産生量が FAA 添加区と比較して約 3 倍に増加した。 $\beta$ -フェネチルアルコールは、Phe が Ehrlich 経路で代謝され産生されるが、ビール下面発酵酵母の遊離 Phe の資化速度は遅い。著者は、 $\beta$ -フェネチルアルコール産生量が SP 添加区で多いのは、遊離アミノ酸として取り込まれにくい Phe が、ペプチド態で存在するとペプチド輸送体を介して効率的に取り込まれ、資化されるためではないかと考えた。そこで、発酵中の培養液を経時的にサンプリングし、培養液を酸分解して残存する全アミノ酸組成を分析した結果、SP 添加区では、資化順位が遅い遊離アミノ酸種 (Phe、Ile、Val など) が培養初期から大量に消費されることが明らかとなった。Phe を含む種々の合成ジペプチドや Phe を培地に添加し、発酵試験を行った結果、ジペプチドとして培地に添加した方が Phe の減少率および  $\beta$ -フェネチルアルコール産生量が大きくなった。以上の結果より、SP を用いた場合、取り込まれにくい遊離アミノ酸種も含めてバランスよく酵母が取り込むことができ、これが SP の発酵助成力の一因になっていることが示唆された。

ビール醸造は低温条件で行われるが、低温条件下では遊離 Trp 輸送体である Tat2p が分解され、遊離 Trp が取り込まれにくくなり、酵母の増殖が抑制されることが知られている。種々の SP と FAA を窒素源として用い、Tat2p が分解される低温や高圧条件下で Trp 要求性株である YPH499 株の培養を行ったところ、SP 添加培地では菌体の増殖が認められたのに対し、FAA 添加培地では増殖が認められなかった。種々検討した

結果、この現象のメカニズムとして、低温条件下で Tat2p の大部分が分解されると、遊離の Tyr と Phe が遊離 Trp の取り込みを拮抗的に阻害するが、遊離の Tyr と Phe 含量が少ない SP 培地を窒素源として用いると、大部分が分解されてごく少数となった Tat2p を介して遊離 Trp が優先的に取り込まれ、増殖停止が回避されることが示唆された。このメカニズムに基づき、ジトリペプチドを多く含み、遊離の Tyr と Phe 含量が少ない SP（ハイニュート AM: SP-AM）と、遊離の Tyr と Phe を大量に含む SP-AM-H（SP-AM をプロテアーゼで分解して作成）を用い、低温条件下の酵母の増殖を比較した。その結果、SP-AM では酵母は良好な増殖を示したのに対し、SP-AM-H では顕著な増殖阻害が認められた。この結果、遊離 Phe 含量が少ない SP-AM がビール醸造に適した SP であることが示された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、アミノ酸バランスに優れる大豆タンパク質を加水分解して得られる SP に着目し、SP が酵母に対して強い発酵助成力を示すメカニズムの解析と、そこで得られた知見を活用し、ビール醸造に適した SP の提案を試みた研究である。

本研究の結果、SP の発酵助成力の高さは、(1) 遊離アミノ酸として取り込まれにくいアミノ酸種を低分子ペプチドの形で酵母が速やかにバランスよく取り込めること、(2) ストレス耐性に関与するアミノ酸の取り込みを阻害するアミノ酸種を低分子ペプチドの形で存在させることで、目的のアミノ酸の取り込みを促進できること、に起因することを国内外を通じてはじめて明らかにした。また、同じ大豆タンパク質由来の分解物において、単なる分子サイズの違い（資化できる窒素源の量が多いか少ないか）だけでなく、その分解方法を工夫することによってさらに優位性を高められることを、機構解明も交えて実証した点も高く評価できる。本研究で得られた知見は今後、発酵、醸造に適したペプチドの設計に大きく貢献することが期待できる。

現在、本研究業績を基盤に発酵に適した大豆ペプチド製品が商品化され、各種のユーザーへの製品供給が実施されており、社会への貢献度も大きく、実学的研究として高く評価できる。

平成 25 年 1 月 24 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。